

ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ БИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА

А.В. Сторчак¹, О.В. Грищенко²¹Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина²Харьковская медицинская академия последипломного образования

Реферат

В статье представлены современные взгляды на биологию влагалищного биотопа, сделан акцент на особенностях физиологии влагалищной биопленки, даны характеристики нарушениям влагалищного биоценоза, определены показания к санации. Анализ роли структурных компонентов биопленки в обеспечении жизнедеятельности колоний микроорганизмов диктует новые подходы к эффективной санации, направленные на разрушение матрикса пленки. Приведены преимущества пенообразующего комплексного антисептика Цитеала, позволяющие рекомендовать его для стартовой санации влагалища.

Ключевые слова: биоценоз, восстановление, Цитеал.

Совокупность микроорганизмов в теле человека достигает 10^{14} – 10^{15} микробных клеток, что в 10–100 раз больше, чем клеток человеческого организма. Все микробное сообщество организма называется микробиотой, ее масса у человека составляет 3–5 кг и на обеспечение ее жизнедеятельности человек расходует до 10 % поступающей энергии и 20 % объема принимаемой пищи. Микробиота каждого конкретного человека индивидуально специфична, генетически детерминирована и наследуема. Наиболее заселенными биотопами организма человека являются: пищеварительный тракт (особенно толстая кишка) до 60 % всей микрофлоры, верхние дыхательные пути – 15–16 %, кожные покровы – до 20 % и влагалище – до 10 % микрофлоры. Возможна миграция колоний микроорганизмов между анатомически соседствующими биотопами [15, 16].

Антропологи полагают, что современный человек (*Homo sapiens*) как вид насчитывает всего 30 тысяч лет, тогда как большинство микроорганизмов существуют на планете более 3,4 миллиарда лет, пройдя (учитывая короткий жизненный цикл) несопоставимо больший путь естественного отбора. Человека вместе с его микробиотой можно рассматривать как «сверхорганизм», чей обмен веществ обеспечивается согласованной работой ферментов, закодированных не только в геноме человека, но и в геномах сотен видов симбиотических микроорганизмов, причем доля чисто человеческих генов в совокупном геноме этого «сверхорганизма» составляет не более 1 %. Микроорганизмы существовали миллиарды лет до появления человека и при необходимости легко смогут освоить новые экологические ниши, в то время как у человека функционирование ряда органов и систем тесно связано с микробиотой. С биологической точки зрения микроорганизмы в результате своей эволюции обрели в виде *Homo sapiens* идеальную среду обитания, которая активно добывает

разнообразную пищу, обеспечивает постоянный комфортный для микроорганизмов температурный режим. В процессе эволюции микроорганизмы сформировали физиологические формы симбиоза: мутуализм и комменсализм и патологический – паразитизм [12, 15, 16].

Основу нормальной микрофлоры человека составляют облигатные анаэробы. Микробиота принимает активное участие в пищеварении, синтезе витаминов, регуляции обмена веществ, детоксикации, определяют некоторые иммунные реакции. Микробиота является источником синтеза нескольких десятков гормоноподобных субстанций (масляная, пропионовая, уксусная, изовалериановая, изокапроновая кислоты, оксид азота, гистамин, серотонин), которые принимают участие в обеспечении гормонального и метаболического гомеостаза организма человека [19, 30, 31, 38].

Биопленки из сапрофитных бактерий препятствуют адгезии и колонизации слизистых оболочек патогенными бактериями. Современный этап развития человечества характеризуется развитием глубоких противоречий в эволюционно выработанной системе взаимоотношений между макроорганизмом и его симбиотной микрофлорой, обусловленных неблагоприятной экологией, нерациональным питанием, хроническим стрессом [12, 19].

В организме 95 % микробиоты образуют биопленки, что меняет биологические характеристики микроорганизмов, описанные для чистых культур *in vitro*. Биопленки формируются как на поверхностях живого организма (стенки кишечника, влагалища, полости рта, зуба), так и на неживых объектах, находящихся в организме человека, где возможно их заселение микрофлорой (зубные протезы, катетеры, стенты, контактные линзы, эндотрахеальная трубка, шовный материал, пупочный катетер). Формирование биопленки для микроорганизмов является универсальным способом вы-

живания в агрессивной среде вне организма человека (посуда, хирургический инструментарий, канализационные трубы, аквариумы). Формирование биопленок – основа патогенеза до 80 % инфекционно-воспалительных заболеваний человека (инфекции мочевыводящих путей, кишечника, миндалин, среднего уха, парадонта и др.), они причина осложнений при трансплантации и заживлении ран. Болезнь легионеров, унесшая жизни 29 человек в Филадельфии в 1976 г., оказалась связанной с бактериями биопленки, образовавшейся в системе кондиционирования воздуха. Предположительно 65 % нозокомиальных инфекций связано с формированием биопленок, стоящих системам здравоохранения миллиарды долларов [1, 9, 35, 38, 44, 45, 52].

Несмотря на то, что биопленки в околозубном налете впервые были описаны Антонием Ливенгуком еще в XVII веке, а биопленки на небных миндалинах при тонзиллите видны невооруженным глазом, концепция образования биопленок начала развиваться только с 1978 г. [13, 53].

Развитие микроскопии и появление в 80-х годах XX ст. таких устройств, как однофокусный сканирующий лазер, позволило исследовать биопленки в их естественных состояниях [16]. Большой вклад в понимание строения микробной биопленки внесли: J.W. Costerton, описавший полисахаридный матрикс и его роль в адгезии, Z. Lewandowski, описавший пространственную гетерогенность биопленки [30, 32, 40].

Структура микробной биопленки включает в себя многослойные колонии микроорганизмов, пронизанные системой каналов, по которым циркулирует жидкость, и гелеподобный матрикс, покрывающий колонии и ими же образованный (рис. 1) [16, 34, 35].

Биополимерный матрикс (внеклеточное полимерное вещество) образуется путем слияния капсул и экстрацеллюлярной слизи микроорганизмов (гликокаликса), продуктов биосинтеза микроорганизмов (полисахаридов, гликопротеинов, может включать в себя фибриллярные элементы и сиаловые кислоты). В биопленках на долю микробных колоний приходится только 5–35 % массы, остальное – межклеточный матрикс. Основным компонентом матрикса являются полисахариды и связанная с ними вода (90–97 % матрикса). Матрикс выполняет важные функции в жизнедеятельности биопленки. Это буферная внутренняя среда колонии, которая защищает колонии от агрессивного влияния внешней среды (предотвращает вы-

сыхание, перегревание, переохлаждение, защищает от воздействия ферментов и лекарственных препаратов). Матрикс выполняет функцию коммуникационной среды, по которой распространяются от колонии к колонии экзометаболиты, продукты распада клеток, сигнальные вещества. Каналы, пронизывающие всю биопленку, обеспечивают распространение питательных веществ (преимущественно низкомолекулярных) по всей биопленке и обмен продуктов метаболизма колоний биопленки с окружающей средой. При этом следует отметить, что биопленки непроницаемы для достаточно крупных молекул, в том числе и молекул большинства антибиотиков [14, 29, 30, 31, 36].

Бактерии в биопленке вырабатывают вещества, которые они не продуцируют в чистой культуре *in vitro*, большинство этих веществ не покидают пределов биопленки. Сообщество бактерий биопленки организует единую генетическую систему в виде плазмид – кольцевых ДНК, несущих поведенческий код для членов биопленки, определяющих их пищевые, энергетические и другие связи между собой и внешним миром. В биопленке установлено наличие активной химической кооперации между отдельными колониями (так называемая кворумная сигнализация). Она позволяет биопленке, представляющей собой объединение одноклеточных организмов в многоклеточное сообщество, осуществлять реакции свойственные многоклеточному организму. Для поддержания кворумной сигнализации бактерии постоянно производят и выделяют специфические сигнальные молекулы. У грамположительных бактерий таковыми являются олигопептиды, у грамотрицательных бактерий – N-ацилгомосеринлактоны. Сигнальные молекулы, известные как аутоиндукторы – например, аутоиндуктор-2 (АИ-2), встречаются и у грамотрицательных, и у грамположительных бактерий. Бактерии биопленки имеют рецепторы к специфическим сигнальным молекулам. Когда сигнальная молекула связывается с рецептором, активируются определенные гены, в том числе вовлеченные в синтез этих сигнальных молекул. По мере роста численности бактерий в колонии концентрация сигнальных молекул в окружающей среде возрастает лавинообразно. В результате бактериальные рецепторы для сигнальных молекул максимально активируются, что приводит к синхронизации транскрипции определенных генов во всех клетках колонии. Майкл Марлетта и сотрудники (2013) из исследовательского института Скриппса установили роль NO в образовании биопленок. Известно, что в высоких концентрациях он токсичен для бактерий. Молекула оксида азота является триггером, запускающим развитие защитных реакций у бактериальной колонии – формирование матрикса. NO активирует гистидинкиназу, которая фосфорилирует белки, контролирующие образование биопленки [8, 10, 15, 18, 26, 42, 43].

Такая организация биопленок, образованных нормальной микрофлорой человека, дает преимущество в обеспечении стабильного гомеостаза органов, функциональность которых зависит от населяющего их микробного сообщества, а формирование биопленок

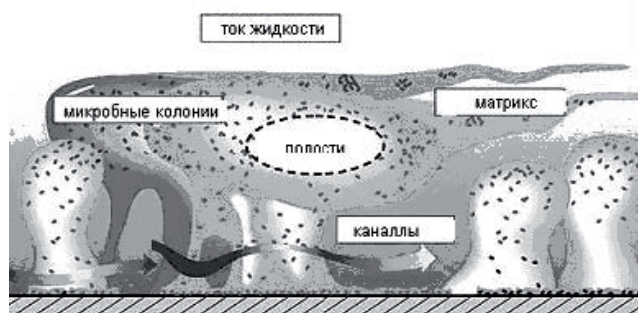


Рис. 1. Строение микробной биопленки

из патогенов создает специалисту значительные трудности в преодолении механизмов коллективной резистентности.

Для микроорганизмов биопленки характерна морфологическая и физиологическая гетерогенность. Идентифицировать микроорганизмы в составе биопленок позволяют современные молекулярные методы – электрофорез в геле и высокоэффективная жидкостная хроматография с флуоресцентной гибридизацией *in situ*, эпифлуоресцентная микроскопия, сканирующая электронная микроскопия, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (CLSM), ПЦР с обратной транскриптазой и другие исследования. В популяции присутствуют как живые (активно делящиеся), так и покоящиеся и нежизнеспособные.

Биопленки – микроскопические структуры, но при достаточных ресурсах для роста они растут до макроскопических размеров, некоторые из них можно увидеть и невооруженным глазом: зубной налет, пленки, образованные *P. aeruginosa*, благодаря продуцируемому ею пиоцианину зеленого цвета [13, 34, 53].

Физиологическое заселение биотопов человека происходит в первые сутки его жизни. Считается, что до момента рождения пищеварительный тракт плода стерилен, и только проходя по родовым путям матери, новорожденный колонизирует пищеварительный тракт через рот. Микробный спектр в переходном стуле новорожденного в первые 3 суток совпадает с микрофлорой влагалища его матери. Кожа новорожденного колонизируется в результате контакта с кожей матери после рождения. Различные штаммы бифидобактерий и бактероидов начинают доминировать в кишечнике ребенка к 10-м суткам жизни при условии грудного вскармливания [16].

Изучение процесса формирования бактериальных пленок позволило установить, что вначале происходит адгезия микроорганизма на субстрате (эпителии, поверхности находящегося в организме катетера, стента), эта стадия обратима. В частности стрептококк синтезирует липотейховую кислоту, которая связывает фибронектин поверхности эпителиальных клеток, обеспечивая прикрепление к ним бактериальной клетки. Окончательное прикрепление (фиксация) микроорганизма сопровождается выделением белковополисахаридных компонентов матрикса, обменом генами с соседними микроорганизмами, что обеспечивает их выживаемость. Состав матрикса определяется микроорганизмами колонии, но чаще всего в него входят полисахариды, гликопротеиды, белки, энзимы, что способствует прочному прикреплению. Созревание колонии микроорганизмов состоит в том, что прикрепившиеся клетки делятся и облегчают прикрепление последующих, а выделяемый ими матрикс удерживает вместе всю колонию. Группой ученых Северо-Западного университета (США) во главе с Дж. Вонгом установлено, что полисахарид Ps1, выделяемый первыми из фиксировавшихся микроорганизмов, определяет направление для фиксации последующих микроорганизмов и рост биопленки. Прикрепившиеся на субстрате бактерии испускают сигнальные молекулы, привлекающие новые

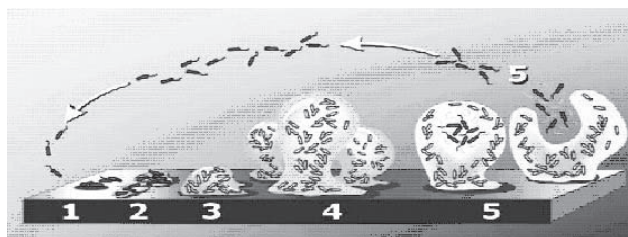


Рис. 2. Стадии построения бактериальной пленки
1 – первоначальное закрепление на поверхности ткани (адгезия)
2 – фиксация
3 – созревание
4 – образование биопленки в белковополисахаридном каркасе
5 – выброс бактерий, которые могут стать основой образования новых колоний биопленок.

бактерии в растущую биопленку и стимулирующие деление уже закрепившихся бактерий. Рост зрелой биопленки заключается в увеличении ее площади и формы с прогрессивным увеличением доли матрикса в ее составе, выполняющего защитную функцию. Биопленка формируется, когда полисахарида становится достаточно для построения ее типичной структуры. От зрелой биопленки периодически отделяются отдельные клетки, способные к адгезии, фиксации и образованию новой колонии (рис. 2) [6, 8, 12, 34].

Для профилактики и борьбы с патогенными микроорганизмами крайне важно знать, как быстро формируются биопленки. Экспериментально (в модели участвовали стафилококки, стрептококки, *E. coli*) установлено, что адгезия микроорганизмов к поверхности занимает несколько минут, прочная фиксация достигается за 2–4 ч, формируют первичные колонии с выработкой компонентов матрикса (что повышает их устойчивость к антисептикам, антибиотикам) в течение 6–12 ч, зрелая биопленка формируется в среднем за 2–4 сут, восстановление механически поврежденной зрелой биопленки возможно в течение 24 ч. Таким образом, профилактика формирования биопленки из патогенов должна быть осуществлена в течение первых 2–4 ч от момента контаминации, а борьба со сформировавшейся биопленкой включает в себя ее механическое повреждение и уничтожение микроорганизмов в сроки, не превышающие суток [7].

Микробная биопленка представляет собой взаимодействующую общность различных микроорганизмов, образующих внутри биопленки микроколонии со свойственной им средой, окруженные и покрытые матриксом, что делает микроорганизмы более устойчивыми к воздействиям как со стороны макроорганизма хозяина, так и к воздействию антимикробных средств. Знания о строении и функционировании микробной биопленки позволяют понять, почему свойства отдельных видов микроорганизмов *in vitro* и в составе биопленки *in vivo* значительно отличаются, почему высокоэффективные при исследовании *in vitro* на чистых культурах микроорганизмов препараты оказываются не столь эффективными в клинической практике. Микроорганизмы в биопленке выживают при воздействии антибиотиков в кон-

центрациях, в 50–100 раз превышающих эффективные для чистых культур этих же микроорганизмов *in vitro*. Есть мнение, что стандартная антибактериальная терапия эффективна в отношении планктонных микробных клеток, в то время как бактерии внутри биопленки продолжают размножаться, приводя к хронизации и рецидивированию воспалительных процессов. Механизмы увеличения устойчивости бактерий в биопленках связаны с ограниченным проникновением антибиотиков через матрикс биопленки, ряд антибиотиков лишены мишени для воздействия в зрелой биопленке, так как скорость деления в ней микроорганизмов снижена, высокие адаптивные реакции и генная изменчивость у персистирующих в биопленке микроорганизмов делает их менее уязвимыми для антибиотиков. Это представляет огромную проблему для современной медицинской практики, так как в образовании биопленок участвуют такие возбудители, как *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. Микроорганизмы в биопленках вырабатывают особые эндотоксины, обладают устойчивостью к воздействию иммунной системы человека, в биопленке появляются популяции сверхантибиотикоустойчивых микроорганизмов (путем обмена плазмидами). Помимо устойчивости к антибиотикам биопленки резистентны и к ионам металлов, включая серебро. Дикие штаммы многих бактерий интенсивно колонизируют его поверхность. Бактерии биопленки взаимодействуют с иммунной системой человека, вызывая выработку антител, но сами при этом остаются неуязвимыми. Этот иммунный механизм лежит в основе повреждения органов и тканей при хронических инфекционно-воспалительных процессах, сопровождающихся образованием биопленок [23–25, 33, 34, 44, 51].

В биопленке облигатных и факультативных анаэробов всегда на порядок больше, чем аэробов, и влагалище с соотношением анаэробов к аэробам как 10:1 является ярким тому примером. Наблюдается «этажность» в расселении различных видов микроорганизмов в биопленке. В области, непосредственно прилегающей к эпителию, где поддерживается отрицательный потенциал, а кислород и его метаболиты в норме отсутствуют, находятся строгие анаэробы, далее располагаются факультативные анаэробы и поверхностно – аэробы [30, 35].

При видовом многообразии влагалищного биоценоза, достигающего 10^7 – 10^9 КОЕ/мл, доминируют в нем лактобактерии (10^7 – 10^9 КОЕ/мл) и бифидобактерии (10^3 – 10^7 КОЕ/мл), составляя свыше 85 %. Среди лактобацилл наиболее часто выделяют *L. fermentum*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. jensenii*, а среди бифидобактерий – *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis*. Влагалищная микробиота гомеостатична и играет важную роль в защите от внешних патогенов. У здоровых женщин бифидобактерии содержатся в более низких концентрациях, чем лактобациллы (до 10^7 КОЕ/мл), однако во время беременности и особенно в сроке родов популяционный уровень их резко возрастает как мощный фактор защиты организма новорожденного от колонизации потенциальными патогенами. Во влагалищном биотопе преобладают анаэробы

в соотношении к аэробам как 10:1. Лактобактерии в биопленке представлены как анаэробами, так и микроаэрофильными колониями.

Обязательным условием размножения лактобациллярной и бифидобациллярной биопленки является достаточное количество гликогена поверхностных клеток эпителия влагалища, которое определяется уровнем эстрогенов в организме женщины. Гликоген метаболизируется до молочной кислоты с образованием спиртов и перекиси, что определяет среднекислую pH во влагалище. Установлена зависимость влагалищного биоценоза от фазы менструального цикла. В первые дни цикла на фоне менструальных кровянистых выделений pH повышается до 5–6, снижается число лактобацилл, возрастает численность анаэробов. В первой фазе менструального цикла вплоть до овуляции прогрессивно снижается pH до 3,8–4,5, восстанавливается и достигает максимального уровня к середине секреторной фазы цикла популяция лактобацилл, снижается количество облигатных анаэробов и колиморфных бактерий [4, 5, 17, 20, 21].

Среднекислая (pH 4–5) среда влагалищного содержимого определяет выживаемость облигатной вагинальной микрофлоры и препятствует бурному размножению транзиторной и патогенной микрофлоры. Для большинства влагалищных облигатных анаэробов (в том числе и *G. vaginalis*), оптимальное для размножения pH соответствует 7–8, так как они не имеют гена *ArsR* сигнальной системы, отвечающей за адаптацию к низкому pH. По мнению О. А. Громовой (2010), снижение pH ведет к снижению активности фермента *LuxS*, отвечающего за синтез сигнальных молекул биопленок, нарушает синтез сигнальной молекулы AI2, что способствует разрыву биопленки *G. vaginalis*. Немаловажным фактором колонизационной резистентности является адгезивная конкурентность между микроорганизмами, которая приобретает особое значение при заселении пустых биотопов (после эффективной санации). При этом pH также имеет значение, так как наиболее сильная адгезия лактобактерий к вагинальным эпителиоцитам при pH 4,3–4,5, а у *G. vaginalis* при pH 5,4. Ген *LuxS*, отвечающий за адаптацию к низкому pH, защищает лактобациллы от гибели при pH ниже 4,3.

Известно, что лактобациллярная колония способна синтезировать естественные антибиотические вещества (бактериоцины и лизоцим), которые также обладают антагонистической активностью в отношении патогенной и условно патогенной микрофлоры влагалища. Лактобактерии различаются по степени воздействия на биопленки, образуемые *G. vaginalis*. Сравнительные исследования показали, что *Lactobacillus reuteri* и в меньшей степени *L. iners* наиболее эффективно вытесняют патогенные бактерии рода *Gardnerella* из биопленок. При этом *L. crispatus* гораздо слабее вытесняет *Gardnerella* из биопленок, а лактобактерия *L. rhamnosus* вообще не оказывает на них воздействия [10, 17, 22, 27, 43, 46, 48].

Соотношение облигатной вагинальной микрофлоры с транзиторной и патогенной, а также степень микроскопических проявлений местной воспалительной

реакции определяет тип биоценоза влагалища, необходимость и тактику его восстановления.

Традиционно оценка степени чистоты влагалища проводится на основании результатов бактериоскопии влагалищного отделяемого по методике F.M. Heurlien (1910). Однако при III–IV степени чистоты влагалища наиболее предпочтительным является количественная оценка микробиоты методом ПЦР с проведением сравнительного анализа конкретных представителей нормобиоты и условнопатогенной микробиоты с общим количеством микроорганизмов с целью выявления степени дисбаланса и этиологической роли конкретных микроорганизмов в его развитии.

Методика количественной ПЦР позволяет идентифицировать у женщин следующие состояния микробиоты: 1. Нормоциноз (всего бактерий 10^6 – 10^8 , лактобактерии 10^6 – 10^8 составляют 70–100% микробиоты, аэробные и анаэробные условнопатогенные микроорганизмы $<10^4$ составляют 0,1–1% микробиоты, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* $<10^4$, грибы рода *Candida* $<10^3$).

2. Умеренный дисбиоз (всего бактерий 10^6 – 10^8 , лактобактерии 10^6 – 10^8 составляют 10–70% микробиоты, аэробные и анаэробные условнопатогенные микроорганизмы $>10^4$ составляют 1–10% микробиоты, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* может быть $>10^4$, грибы рода *Candida* – $>10^3$).

3. Выраженный дисбиоз (всего бактерий может быть и $<10^5$, и 10^6 – 10^8 , лактобактерии 0– 10^6 составляют 0–10% микробиоты, аэробные и анаэробные условнопатогенные микроорганизмы $>10^5$ составляют 10–100% микробиоты, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* $>10^4$, грибы рода *Candida* $>10^3$).

Дисбиоз по этиологии может быть анаэробный, аэробный и смешанный.

При наличии у пациентки выраженной воспалительной реакции, патогенных микроорганизмов на фоне отсутствия лактобактерий состояние классифицируется как вагинит (неспецифический или специфический).

При отсутствии абсолютных патогенов (гонококков, хламидий, трихомонад, бледной трепонемы), доминировании лактобактерий (85–100% от всей микробиоты) и отсутствии клинических проявлений воспаления пациентка в санации влагалища не нуждается.

Дисбиоз влагалища (бактериальный вагиноз) представляет собой состояние, при котором на фоне значительного снижения видов *Lactobacillus* (преимущественно перекись продуцирующих) наблюдается рост условнопатогенной анаэробной микрофлоры (включая *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium spp.*), которая является облигатной для влагалища. МКБ10 (2006) не выделяет бактериальный вагиноз в самостоятельное заболевание, поэтому статистически его относят к невоспалительным заболеваниям влагалища (код N89.0), ВОЗ (2005) рекомендует относить бактериальный вагиноз к эндогенным инфекциям репродуктивного тракта человека. Таким образом, бактериальный вагиноз не связан с инвазией патогенных микроорганизмов извне, а обусловлен эндогенными причинами,

определяющими колонизационную резистентность влагалища. Ввиду того, что бактериальный вагиноз способствует инвазии патогенных микроорганизмов и вирусов, повышает риск преждевременного разрыва плодовых оболочек при беременности, что ведет к досрочному прерыванию беременности, повышает риск послеродовых инфекционно-воспалительных осложнений, он требует лечения [28, 46, 49, 50].

Диагностика бактериального вагиноза базируется на классических критериях R. Amsel (1983). На протяжении ряда лет этиологию бактериального вагиноза связывали с *Gardnerella vaginalis*, которая обладает выраженной способностью к образованию биопленки. Однако количественное определение видового спектра микроорганизмов во влагалищном отделяемом методом ПЦР в последние годы значительно расширило представления о видовом составе биопленки при бактериальном вагинозе. В частности, методика ПЦР позволила Collins, Wallbanks (1992) описать род *Atopobium*, a Rodriguez (1999) описать *Atopobium vaginae* – грамположительную анаэробную палочку семейства *Corinobacteriaceae*, с которой в настоящее время в большей степени, чем с *Gardnerella vaginalis*, связывают бактериальный вагиноз. Знания о роли *Atopobium vaginae* в бактериальном вагинозе важны в связи с тем, что она устойчива к метронидазолу [20].

Растет арсенал антибактериальных препаратов (местных и системных), эффективно уничтожающих анаэробную флору, однако достичь эффективного контроля бактериального вагиноза только методами санации не удастся. Бактериальный вагиноз отличается высоким процентом рецидивирования, что свидетельствует о сохраняющихся эндогенных причинах дисбиотического состояния (дисгормональные состояния, нарушения в различных звеньях иммунитета, нерациональное применение средств интимной гигиены и санации влагалища, применение спермицидов, дисбиоз кишечника), нарушающих колонизационную резистентность влагалища, адгезию, размножение видов *Lactobacillus* и требующих ликвидации в первую очередь [27, 28, 49].

Бактериальный вагиноз может возникнуть как следствие нерациональной санации вагинита (кольпита), при котором наряду с патогенами в верхних слоях биопленки гибнут аэробы, а сохранившиеся в глубоких, непосредственно прилегающих к эпителию влагалища, слоях строгие анаэробы получают возможность для экспансивного роста. Бактериальный вагиноз может возникнуть после эффективной санации влагалища препаратами, практически оставляющими его стерильным, если не создавались условия для эффективной адгезии и размножения видов *Lactobacillus*, что ведет к заселению влагалища микроорганизмами из соседнего биотопа кишечника.

Современные представления о биологии микроорганизмов в биопленках при хронических инфекциях полового тракта диктуют необходимость новых подходов к их диагностике и лечению.

Присутствие в зоне формирования бактериальной биопленки инородного тела ведет к распространению по его поверхности биопленки, что следует учитывать

при проведении санации. В половом тракте женщины подобными поверхностями для биопленок могут быть: внутриматочные контрацептивы, влагалищные пессарии, контрацептивные кольца, шеечные колпачки, влагалищная диафрагма, гигиенические влагалищные тампоны. В наибольшей степени адгезии микроорганизмов способствуют полиэтиленовые и поливиниловые поверхности, в наименьшей – силиконовые, тефлоновые и полиуретановые, однако до настоящего времени не существует материалов, применение которых одновременно было безвредно для макроорганизма и исключало бы биологическое обрастание. В целях повышения эффективности санации перечисленные изделия должны быть извлечены, и их не следует использовать до нормализации микробиоценоза.

Анализируя роль структурных компонентов биопленки в обеспечении жизнедеятельности колоний микроорганизмов, становится понятно, что эффективная санация может быть достигнута только путем разрушения матрикса, системы каналов и механического удаления всех компонентов биопленки. Обычно биопленки разрушают механическим путем (когда разрушаются каналы и матрикс пленки), однако биопленки способны к самовосстановлению, поэтому борьба с биопленкой должна быть комплексной, включающей в себя чередование частого механического разрушения структуры биопленки и удаления ее компонентов, уничтожение планктонных микроорганизмов с помощью антисептиков, антибиотиков, антимикотиков, так и предотвращение восстановления полисахаридного матрикса биопленки. Эта стратегия давно нашла свое применение в хирургии при лечении инфицированных ран [2, 9, 23, 39, 52].

Несмотря на множество современных диагностических технологий, идентификации в биотопе подлежит не более 20 % микробного спектра. Таким образом, антибактериальная терапия нацелена на малую часть микробного спектра. Чувствительность микробной ассоциации в биопленке к антибиотикам гораздо ниже определенной *in vitro* для чистой культуры.

Для борьбы с биопленками на сегодняшний день очевидными преимуществами обладают антисептики. К их преимуществам относятся неспецифический механизм действия, исключающий формирование истинной устойчивости возбудителей и прогнозируемая фармакокинетика.

Заслуживает внимания в качестве антисептика для санации влагалища пенообразующий антисептический раствор для наружного применения – Цитеал. Цитеал представляет собой антисептик, который удачно объединяет три антисептика, потенцирующих действие друг друга, и пенообразование за счет введения в состав поверхностно активных веществ (ПАВ) – кокамидопропил-бетаина и др. (рис. 3). Кокамидопропилбетаин в кислой среде приобретает положительный заряд и обеспечивает пенообразование.

Пенообразование способствует лучшему проникновению антисептика и обеспечивает более продолжительный контакт с поверхностями, покрытыми био-

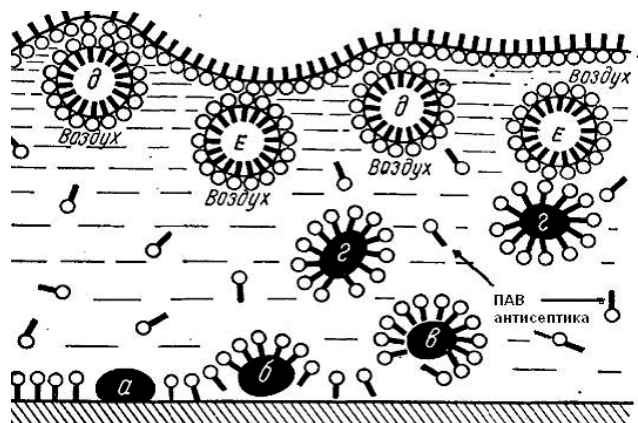


Рис. 3. Механизм действия пенообразующих антисептиков

- а – частицы биопленки;
- б – адсорбция частиц биопленки с помощью пены;
- в – отрыв частицы биопленки от поверхности;
- г – плавающая частица биопленки в растворе антисептика;
- д – пузырьки воздуха в растворе антисептика (пена);
- е – объединение пузырька пены с частицами биопленки

пленками. Пенообразующие растворы адсорбируют с поверхности элементы полисахаридного матрикса и бактериальной пленки, эффективно удерживают их в растворе, препятствуя повторному осаждению на поверхность, и тем самым разрушают матрикс биопленки. Пенообразование антисептического раствора позволяет добиться санирующего эффекта меньшей концентрацией антисептика в растворе, что определяет хорошую переносимость. Смывание пены с поверхности слизистых оболочек позволяет эффективно механически удалить бели вместе с элементами бактериальной пленки и тем самым обеспечить наилучшие условия для последующего воздействия этиотропных средств санации.

Вероятно, именно пенообразование обеспечивает Цитеалу высокую активность в присутствии гноя, крови, слизи в отличие от иных антисептиков (рис. 4).

У Цитеала в отличие от большинства широко используемых антисептиков, таких, как хлоргексидин, повидон йод, наилучший профиль безопасности, (крайне низкий риск контактных дерматитов), благодаря этому он не имеет противопоказаний по применению у детей (может применяться даже у новорожденных), разрешен к применению у беременных и женщин, кормящих грудью. В отличие от большинства антисептиков Цитеал при широком спектре противомикробного действия обладает бактериостатическим действием при pH 5, что менее агрессивно сказывается на лактобациллярной микрофлоре.

Немаловажным является то, что дополнительные компоненты Цитеала натурального происхождения. Они уменьшают раздражение (за счет кокамидопропил-бетаина, получаемого из кокосового масла и свеклы), увлажняют – за счет диэтаноламида жирных кислот (из кокосового масла), смягчают – за счет этилендиамин-тетрауксусной кислоты, увлажняют и поддерживает pH 5 – за счет молочной кислоты. Среди компонентов отсутствует лаурилсульфат натрия, который часто применяют как поверхностно активное вещество (ПАВ) для



Рис. 4. Этапы воздействия Цитеала на бактериальную биопленку:

1-й этап – вспенивание, прикрепление к поверхности биопленки и ее адсорбция, которая механически разрушает ее полисахаридный матрикс;

2-й этап – собственно воздействие антисептических компонентов препарата на микроорганизмы, которые стали доступны после разрушения матрикса;

3-й этап – удаление разрушенного матрикса и бактерий, продуктов распада микроорганизмов.

вспенивания, но, как известно, он обезжиривает, сушит кожу и слизистые оболочки, вызывает раздражение и дерматиты.

Также столь высокий профиль безопасности при высокой эффективности обусловлен крайне низким содержанием трех антисептиков в рабочем растворе препарата (полученном после разведения), который путем пенообразования увеличивается в объеме и имеет контакт слизистой оболочки влагалища на большей площади, чем средства в жидкой и тем более твердой форме, а также короткой экспозицией препарата на поверхности слизистой оболочки – не более 2 мин. Один из компонентов препарата – хлоркрезол как представитель фенолов обладает способностью к образованию с полисахаридами микробной биопленки комплексных соединений, что ведет к ее разрушению и повышает эффективность воздействия гексамидина и хлоргексидина. Следует отметить, что Цитеал, в отличие от хлоргексидина, проявляет свою активность в отношении кислотоустойчивых бактерий.

Благодаря оптимальному для секрета влагалища pH 5 Цитеал способствует адгезии лактобацилл.

Применение Цитеала в комплексной программе профилактики вертикальной передачи ВИЧ от матери к плоду в Университетском госпитале Камеруна продемонстрировало его высокую эффективность. Беременные получали на протяжении гестации стандартную антиретровирусную терапию, накануне родов и во время родов влагалище обрабатывали Цитеалом, им же проводили обработку кожных покровов новорожденного. Большинство беременных к сроку родов имели низкую вирусную нагрузку, что позволило провести их родоразрешение через естественные родовые пути. ВИЧ позитивный статус в ранний неонатальный период установлен у 1,1 % новорожденных, что с учетом родоразрешения через естественные родовые пути не является высоким показателем [37].

Собственный опыт применения Цитеала для санации влагалища как при выраженных дисбиозах, так при кольпитах, вызванных патогенной микрофлорой, свидетельствует о быстроте его эффекта (уже с 3го дня ликвидируется местная воспалительная симптоматика) и высокой эффективности (отсутствие рецидивов более чем у 95 % пациенток) и универсальности. Широкий спектр бактериостатического действия пенообразующего раствора позволяет использовать его до получения результатов полного бактериологического, вирусологического обследования. При отсутствии необходимости применения этиотропного антибиотика системно (хламидиоз, гонорея, сифилис, трихомониаз), Цитеал может служить основным средством санации влагалища. Препарат хорошо переносится, быстро ликвидирует местное воспаление.

Залогом эффективной антибактериальной санации влагалища является использование антибиотиков, проникающих через матрикс в биопленку, количество которых крайне ограничено. Большинство антибиотиков позволяет добиться клинического улучшения, воздействуя на планктонные микроорганизмы, однако сохраняющаяся популяция патогенных микроорганизмов в биопленках приобретает устойчивость и является причиной рецидивов. Эффективность фторхинолонов и фосфомицина связывают с небольшими размерами их молекул, которые относительно легко диффундируют через матрикс биопленки. Однако они оказывают свое влияние только на активно делящиеся клетки, практически не воздействуя на клетки персистенты. Чем длительнее существует биопленка, тем выше в ней содержание клеток персистентов. Оставшиеся в живых после антибактериальной терапии, клетки персистенты станут родоначальниками новых биопленок, что клинически повлечет за собой клинический рецидив заболевания [1, 41].

Перспективным направлением в борьбе с биопленками, образованными патогенами, может стать ис-

пользование бактериофагов. Если бактериофаг также обладает гидролитическими ферментами, разрушающими полимерные вещества матрикса биопленки, капсулу бактериальной клетки или клеточную стенку бактерии, то целостность биопленки может быть быстро разрушена [11].

Представляет интерес стратегия, направленная на разрушение экзополисахаридного матрикса биопленки для повышения эффективности антибактериальной терапии. С.Р. Johansen установил, что ферменты эффективны для подавления жизнедеятельности выращенных *in vitro* биопленок некоторых микроорганизмов. Состав внеклеточного полимерного матрикса биопленок может быть весьма вариабельным, однако предлагается идентифицировать полисахариды для определенных организмов в биопленке и воздействовать на биопленку ферментами, избирательно разрушающими полисахариды. Способностью разрушать внеклеточный матрикс обладает N-ацетилцистеин, что позволяет рассматривать его в качестве перспективного вещества для борьбы с биопленками [9, 39].

Попытки целенаправленного заселения влагалища лактобациллярной микрофлорой в виде влагалищных пробиотиков не эффективны ввиду того, что в них, зачастую, используют виды не типичные для влагалищного биотопа. Влагалищные и кишечные штаммы *Lactobacillus acidophilus* находятся в антагонистических отношениях. Антагонизм может проявляться в двух формах: «пробиотик против собственных лактобацилл» и «собственные лактобациллы против пробиотика» [3]. В начале девятых годов прошлого века Б.А. Шендеровым предложена идея консервации индивидуальной микрофлоры в молодом здоровом периоде жизни конкретного человека с целью ее использования в качестве пробиотика при нарушениях биоценоза.

Для эффективной коррекции вагинальной микрофлоры рациональной является тактика поддержания оптимального pH во влагалище (4,0–4,5) для повышения адгезии *Lactobacillus* к эпителию влагалища. Коррекция вагинальной микрофлоры невозможна без устранения эстрогенного дефицита, для достаточной пролиферации поверхностных клеток, служащих единственным источником питания для *Lactobacillus*. Эффективное размножение *Lactobacillus* и быстрое развитие биопленки будет способствовать конкурентному вытеснению из биотопа иных микроорганизмов. Физиологичным подходом для снижения pH во влагалище было бы использование молочной кислоты, которая выполняет эту функцию в норме, однако она быстро абсорбируется и подвергается активному метаболизму, таким образом, практически не задерживаясь во влагалище. В настоящее время для коррекции влагалищного pH используют аскорбиновую кислоту, включение ее в стандартный курс лечения бактериального вагиноза на протяжении 6 дней позволяет снизить число рецидивов в 3,6 раза. Константа кислотной диссоциации аскорбиновой кислоты составляет 4,1 (pH 4,1) [4, 5, 27, 43, 47].

Залогом эффективного восстановления влагалищного нормоциноза является достаточное количество бифидо- и лактобактерий в кишечнике (т.е. кишечный

нормоциноз), который легко нарушается при системном применении антибиотиков.

Современные представления о нарушениях влагалищного биоценоза и биологии биопленок диктуют необходимость комплексного подхода к санации влагалища, который включает в себя механическую ликвидацию бактериальных биопленок, образованных преимущественно облигатными анаэробами с последующим созданием максимально благоприятных условий для заселения влагалищного биотопа биопленками *Lactobacillus sp.* Пенообразующий антисептик Цитеал позволяет эффективно осуществить химико-механическую санацию влагалища, сохраняя оптимальное pH (4,0–4,5) для последующей адгезии *Lactobacillus*, что позволяет считать Цитеал оптимальным препаратом для стартовой терапии влагалищных дисбиозов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артеменко К.Л. Антимикробная терапия больных абсцессами и флегмонами челюстнолицевой локализации с использованием препаратов, проникающих в биопленки: Автореф. дис. канд. мед. наук. СПб., 2007. – 20 с.
2. Афиногенова А.Г., Даровская Е.Н. Микробные биопленки ран: состояние вопроса //Травматология и ортопедия России. – 2011. – № 3 (61). – С. 119–125.
3. Блинов А.И., Глушанова Н.А., Бахаев В.В., Левченко В.Г. Принципы использования пробиотических лактобацилл в акушерстве и гинекологии //Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – №3 (55). – С. 16–18.
4. Буданов П.В. Современные принципы терапии бактериального вагиноза // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 58–62.
5. Буданов П.В. Стандарты и принципы патогенетической терапии бактериального вагиноза // Consilium medicum. – 2012. – Том 12, № 6. – С. 52–59.
6. Винник Ю.С., Перьянова, Онзуль Е.В., Теплякова О.В. Микробные биопленки в хирургии: механизмы образования, лекарственная устойчивость, пути решения проблемы // Новости хирургии. – 2010. – № 6, том 18. – С. 115–125.
7. Гарифуллов Г.Г. Некоторые аспекты развития инфекционных осложнений при артропластике //Практическая медицина. – 2012. – № 8 (64), том 1.
8. Гинцбург А. Социальное поведение бактерий // Медицинская газета. – 2006. – № 62. – С. 18.
9. Голуб А.В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. –Том 14, № 1. – С. 23–29.
10. Громова О.А., Торшин И.Ю., Гарасько Е.А. Молекулярные механизмы топического назначения витамина С в лечении бактериального вагиноза. //Акушерство и гинекология. –2010. – № 11. – С. 37–42.
11. Дрюккер В.В., Горшкова А.С. Бактериофаги и их функционирование в биопленках //Известия Иркутского государственного университета, серия «Биология. Экология». – 2012. –Т. 5, № 3. – С. 8–16.

PROBLEMATIC ISSUES OF RESTORATION OF VAGINAL BIOCECENOSIS

A.V. Storchak¹, O.V. Grishchenko²

¹V. N. Karazin Kharkiv National University

²Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

Abstract

The article presents the modern views on biology of vaginal biotope, it focuses on the features of physiology of vaginal biofilm, it gives the characteristics of vaginal biocenosis disorders, determines the indications for sanitation. The analysis of biofilm structural components role in life support of microorganism colonies demands new approaches to the effective sanitation aimed at the destruction of the film matrix. The advantages of integrated foaming antiseptic Cyteal are given, they allow to recommend it for starting the sanitation of vagina.

Key words: biocenosis, rehabilitaiton, Cyteal.